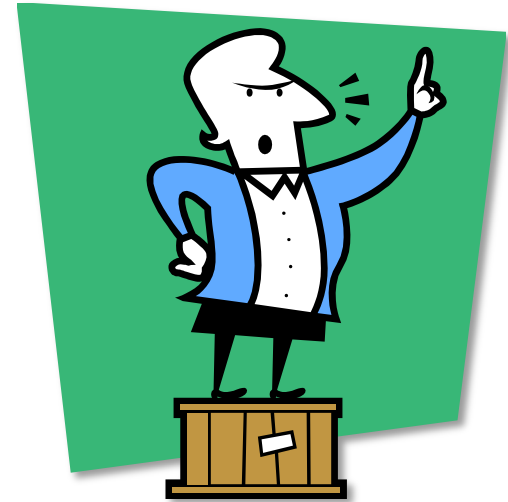
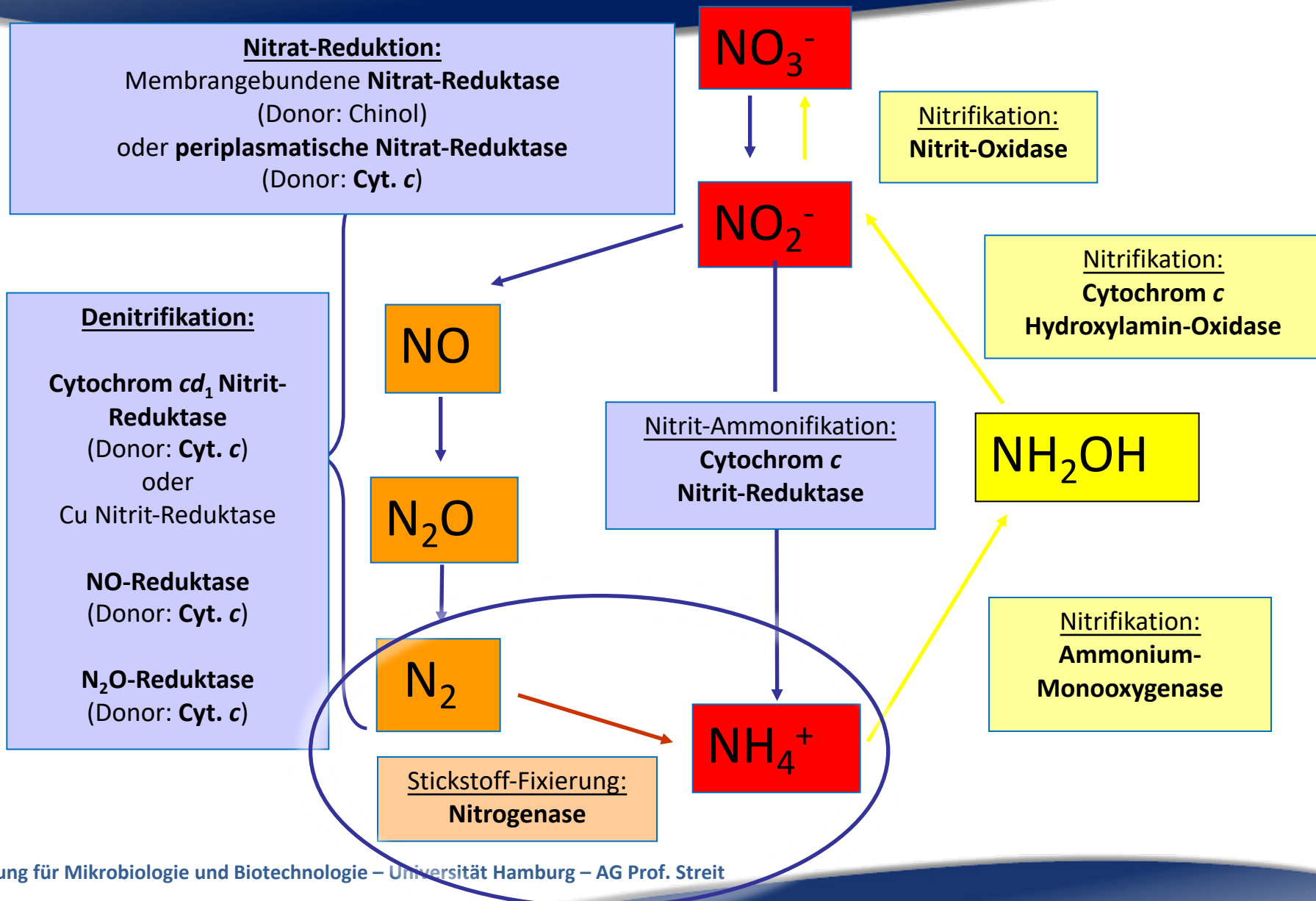


Thema der Vorlesung

Stickstoffkreislauf

- biologische Stickstofffixierung (BNF)



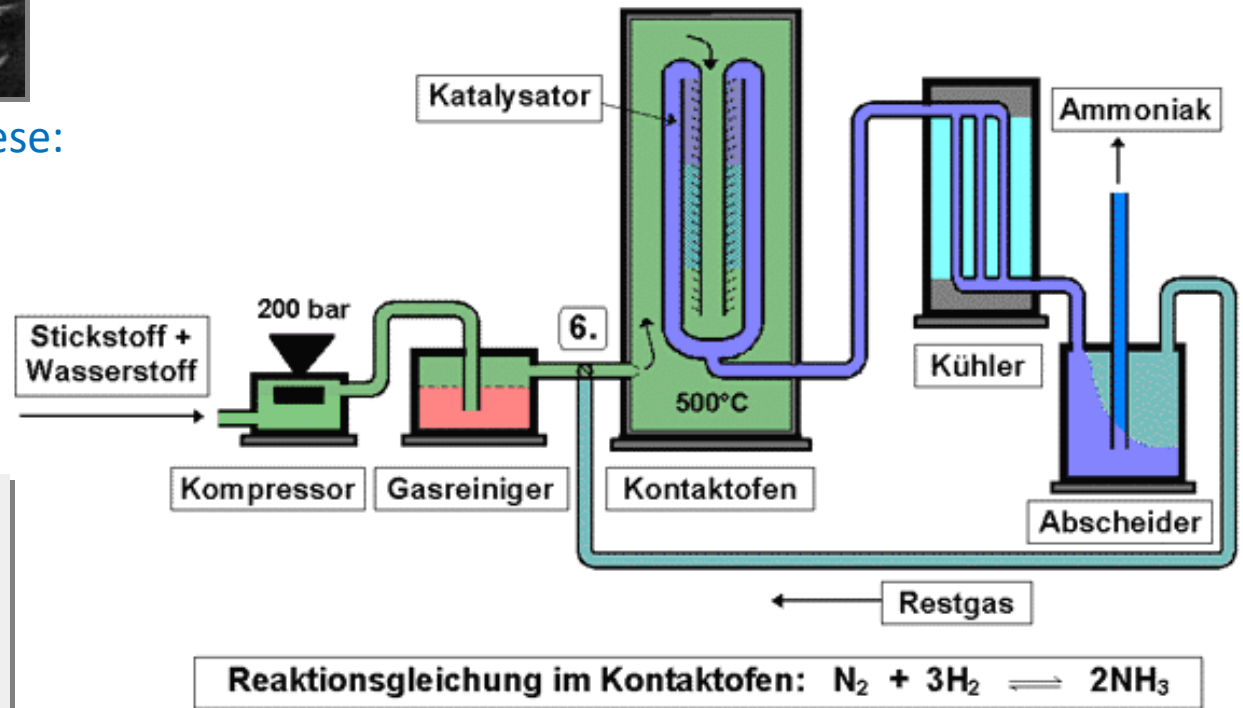




Erfinder der Ammoniaksynthese:
Carl Bosch und Fritz Haber



Die Ammoniaksynthese nach dem Haber-Bosch-Verfahren



**Hoher Druck (min. 200 bar) und
hohe Temperatur (min. 500°C) !**

Bacteria

Azotobacter vinelandii

Rhodobacter capsulatus

Klebsiella pneumoniae

free living

Sinorhizobium meliloti

Bradyrhizobium japonicum

symbiotic

Azoarcus sp. BH72

Herbaspirillum seropedicae

associated

Archaea

Methanococcus maripaludis

Methanothermobacter therm.

Methanosarcina barkeri

Methanosarcina mazei

Methanosarcina acetivorans



Gründung durch durch mikrobielle Nitrogenaseaktivität Hier: Sojabohnenfeld



Ben B. Bohlool

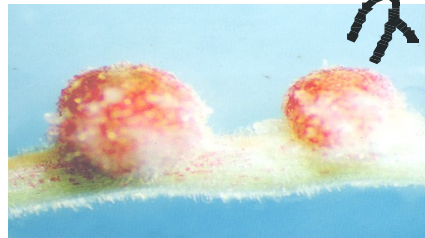
ohne N-Dünger

mit mikrobieller Inokulation

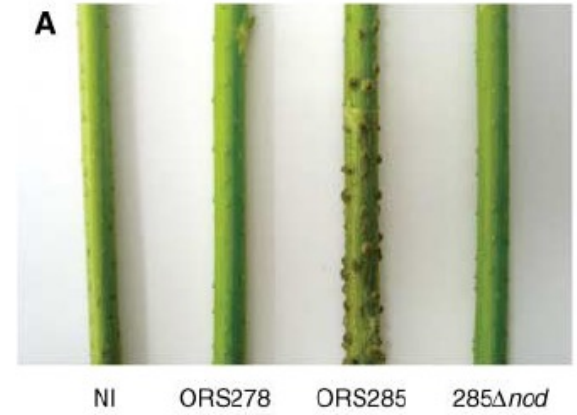
Die Knöllchen befinden sich z.T. auch an Stengeln, z.B. bei photosynthetischen Bradyrhizobien



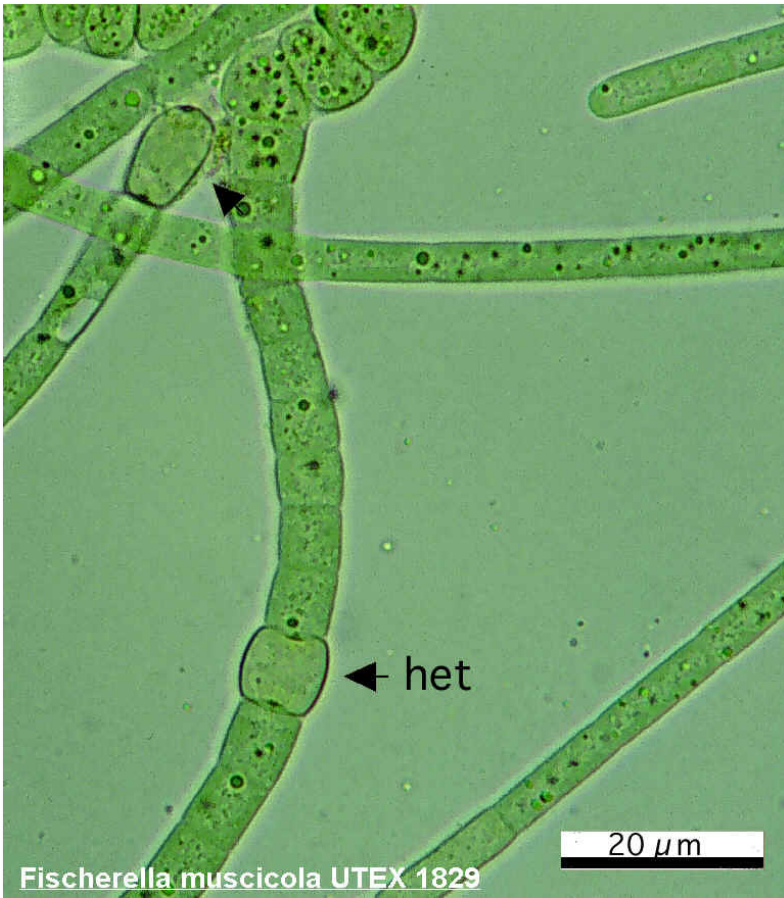
determinierte Knöllchen



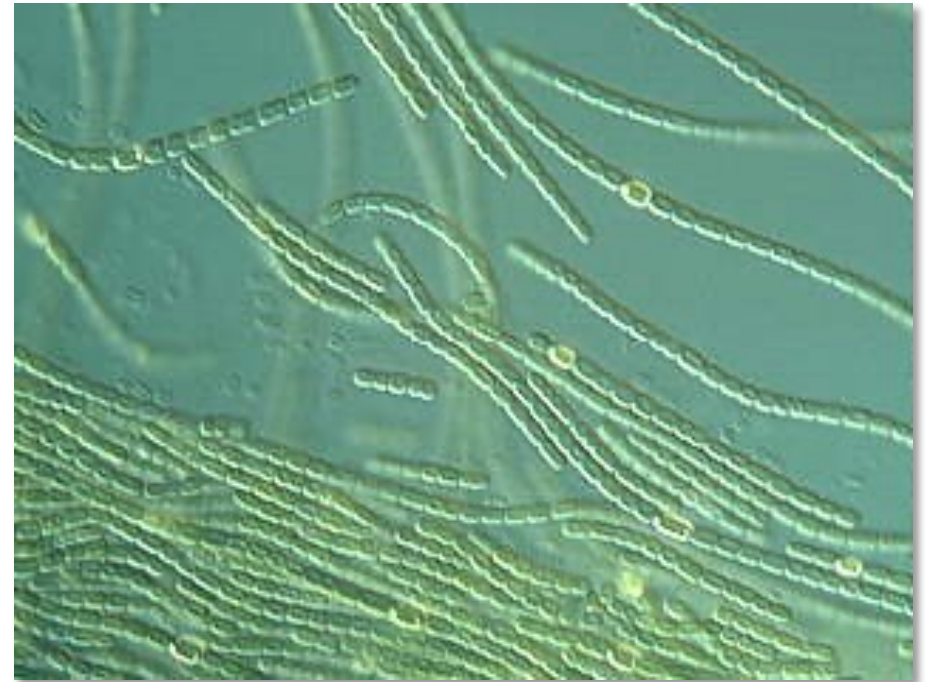
Rote Farbe:
Leghämoglobin



nicht determinierte Knöllchen



Fischerella muscicola mit Heterocysten



Anabaena ambigua

Wasserfarn: Azolla
N₂-Symbiose mit
Cyanobakterien der
Gattung Anabaena



<http://bio390parasitology.blogspot.de/2012/04/anabaena-azollae-water-ferns-krankt.html>

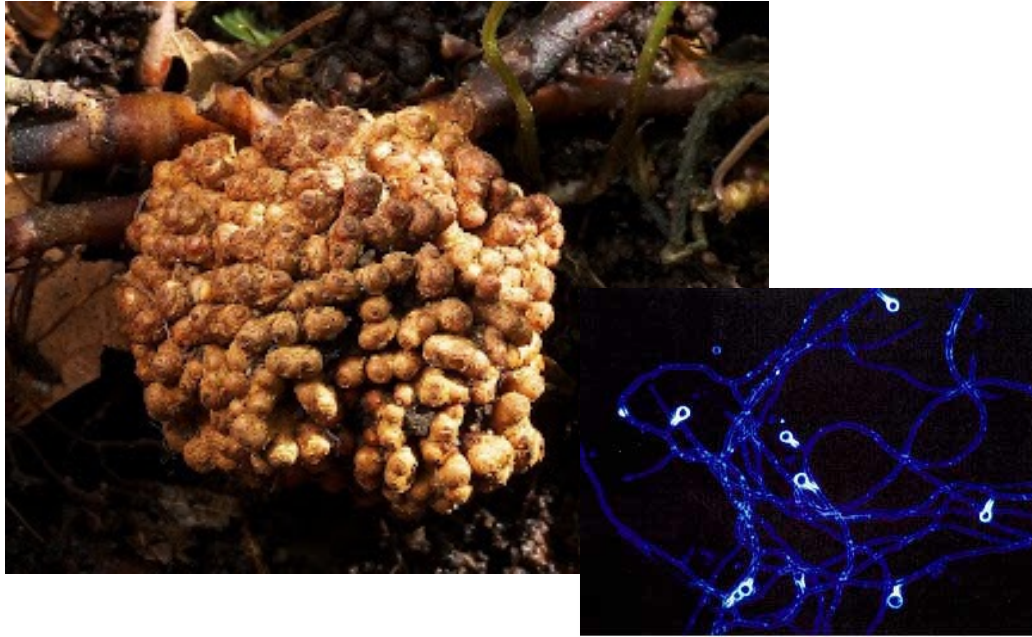
**Gründüngung
im Nassreisanbau**



Symbiose mit Palmen (*Cycas revoluta*)

Cyanobakterien: Gattung Anabaena





Bakterien der Gattung **Frankia**:

aerobe, fadenförmige grampositive **Actinobakterien**
sie bilden knöllchenartige Strukturen an Bäumen (Erlen/Alnus) und
fixieren molekularen Stickstoff

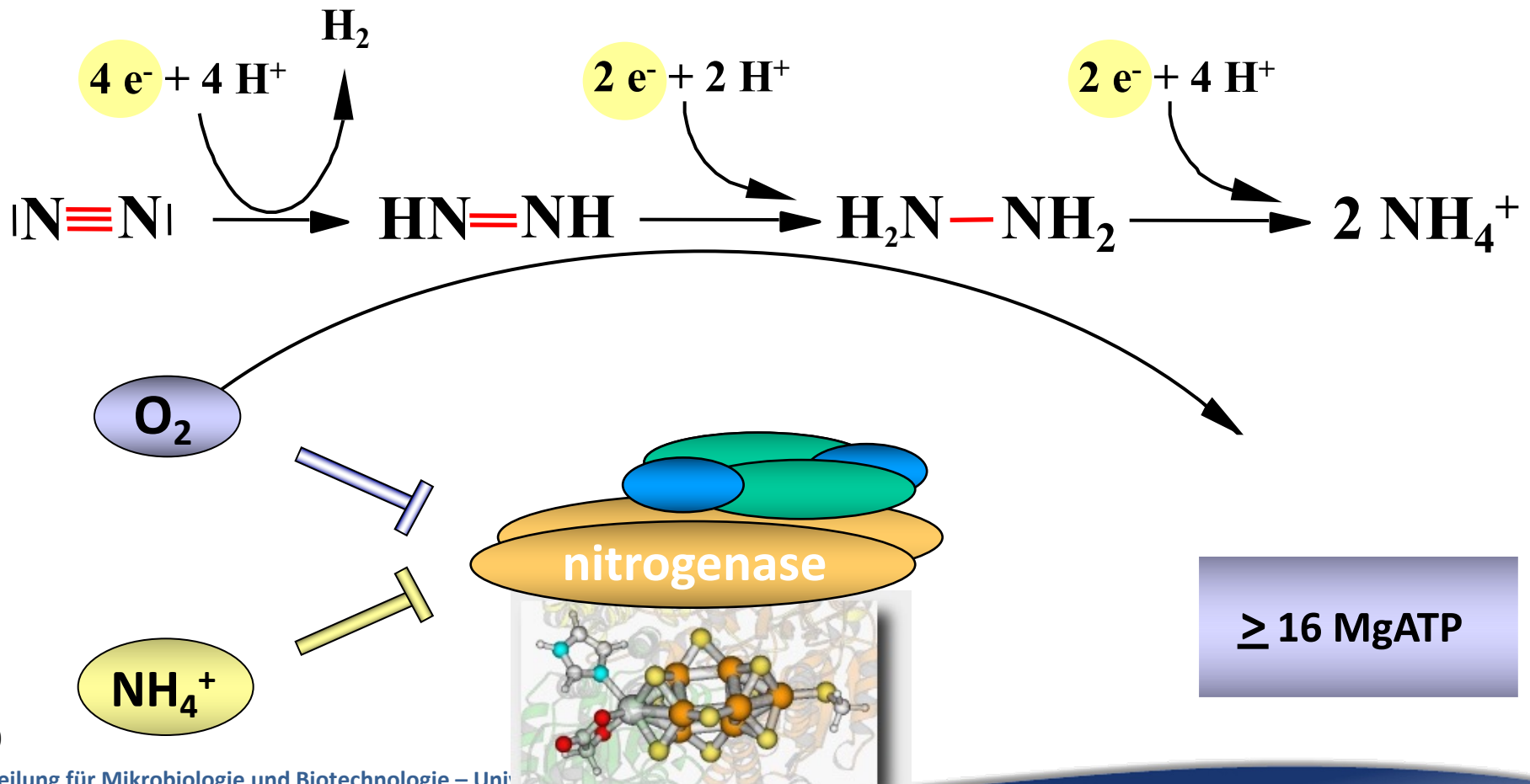
Actinorrhiza: wegen der Fadenförmigen Form der Mikroorganismen
Es sind aber Bakterien keine Pilze!!!

(Albert Frank. 1839-1900)

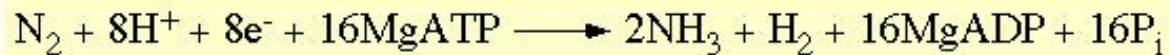


MicrobeWiki & Genoscope

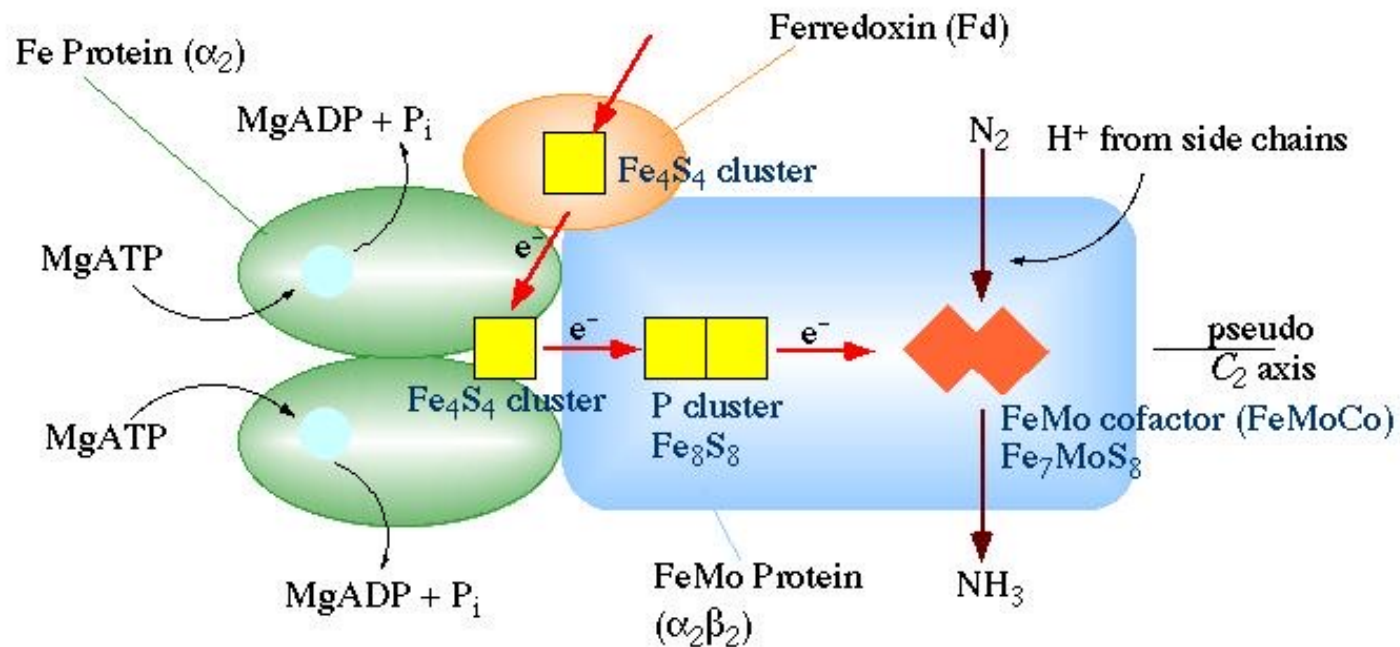
Enzymatic reduction of molecular nitrogen

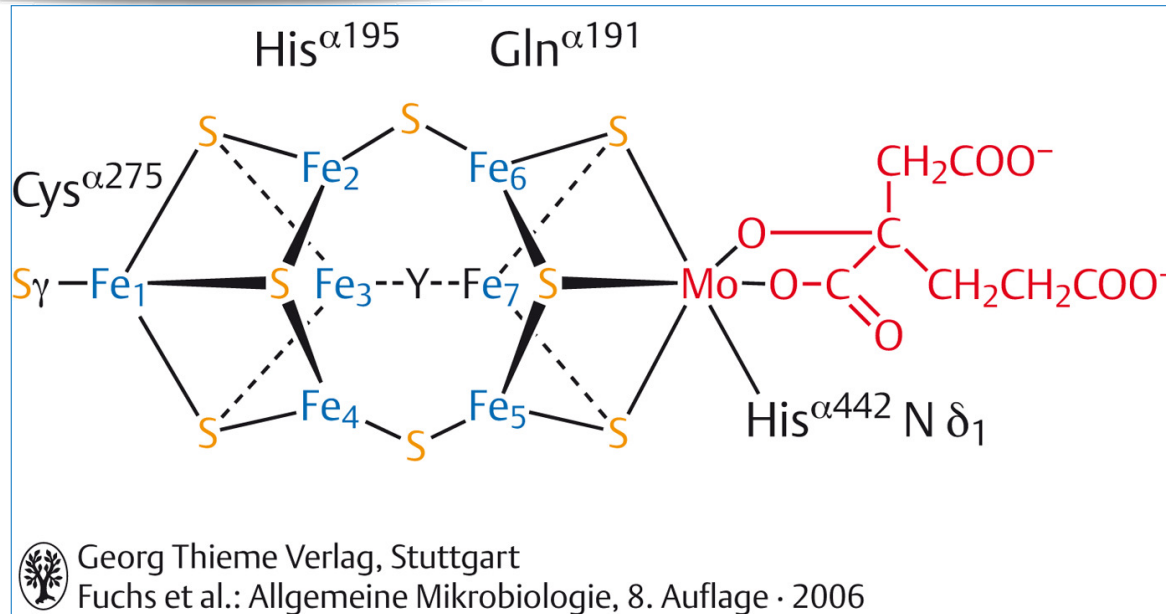


Nitrogenase Complex



$$\Delta G^0 = -65.6 \text{ kJ/mol}$$

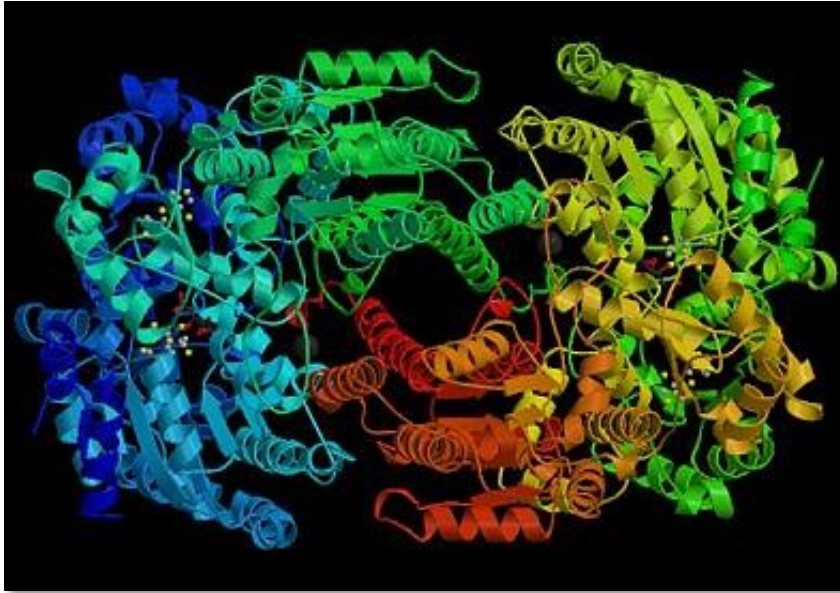




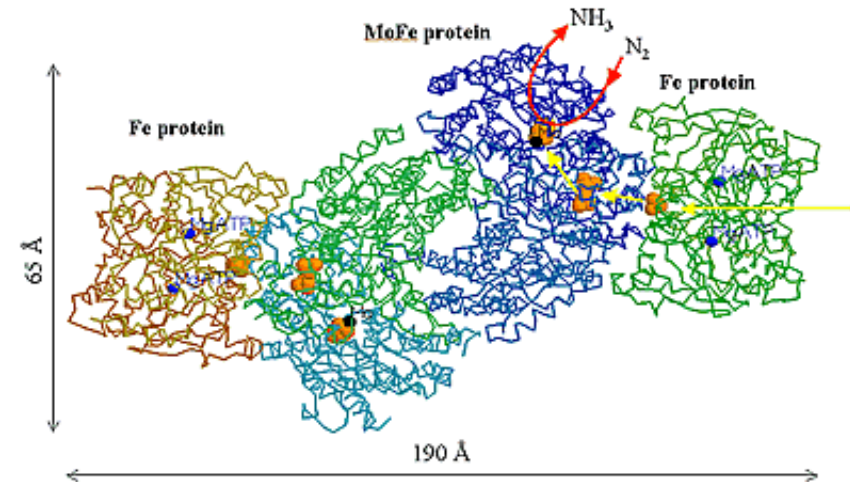
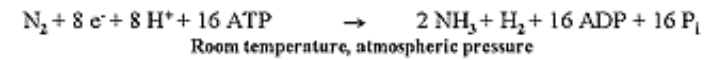
Die „eigentliche“ Nitrogenase (Komponente II) besteht aus:

- 2 alpha- und 2 beta –Untereinheiten
- 2 FeS-Zentren
- 2 Metallzentren (MoCo) **MoCo-Faktor** mit 2 Mo, 30 Fe, 34 S und 2 Homocitrat
- der eigentliche MoCo-Faktor enthält ein 1 Mo, 7 Fe (II) Homocitrat und S

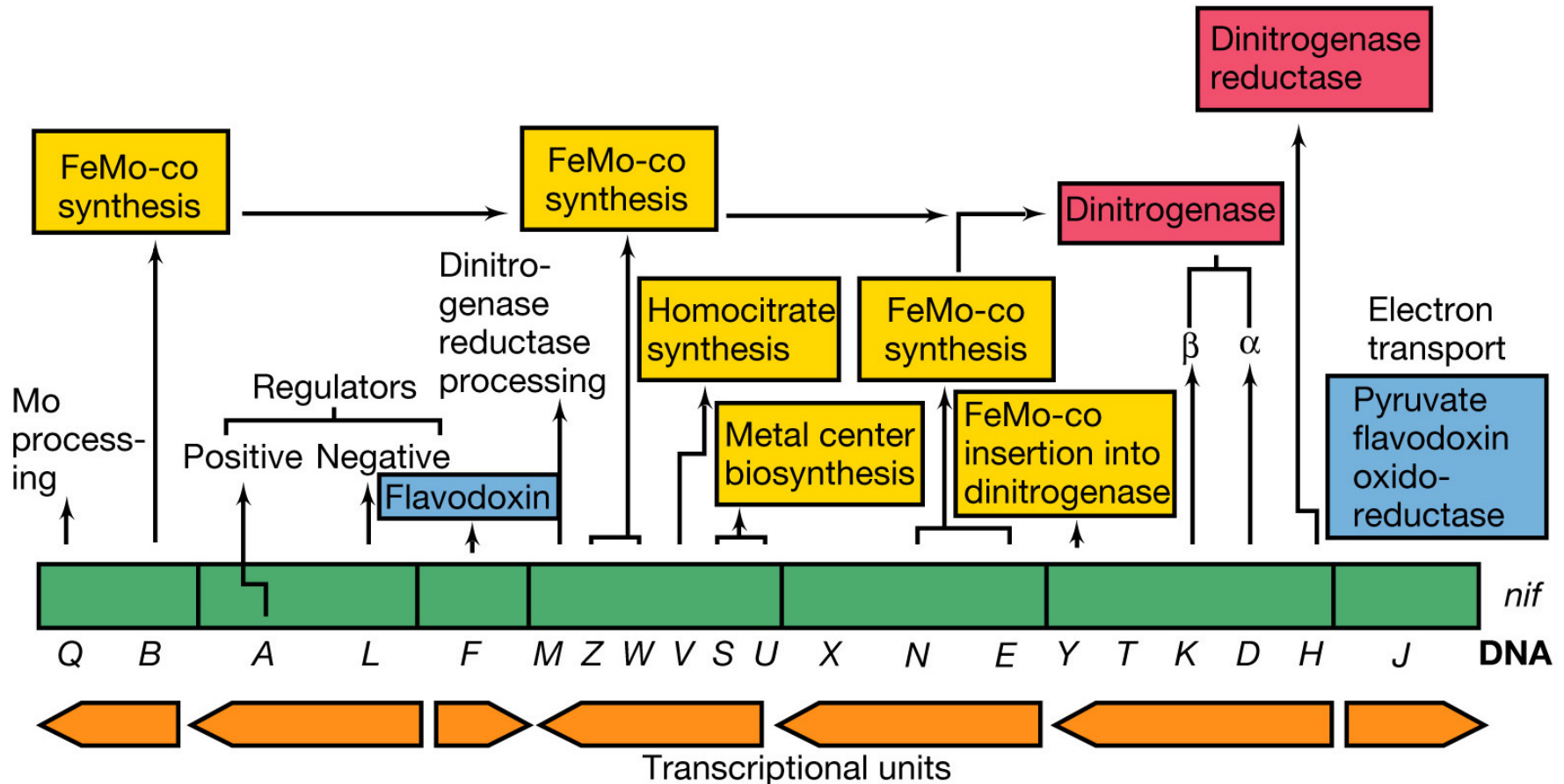
alternativ zur Mo-Nitrogenase gibt es **Va-** oder **Fe-Fe**-Nitrogeneasen
in *Azotobacter vinelandii*



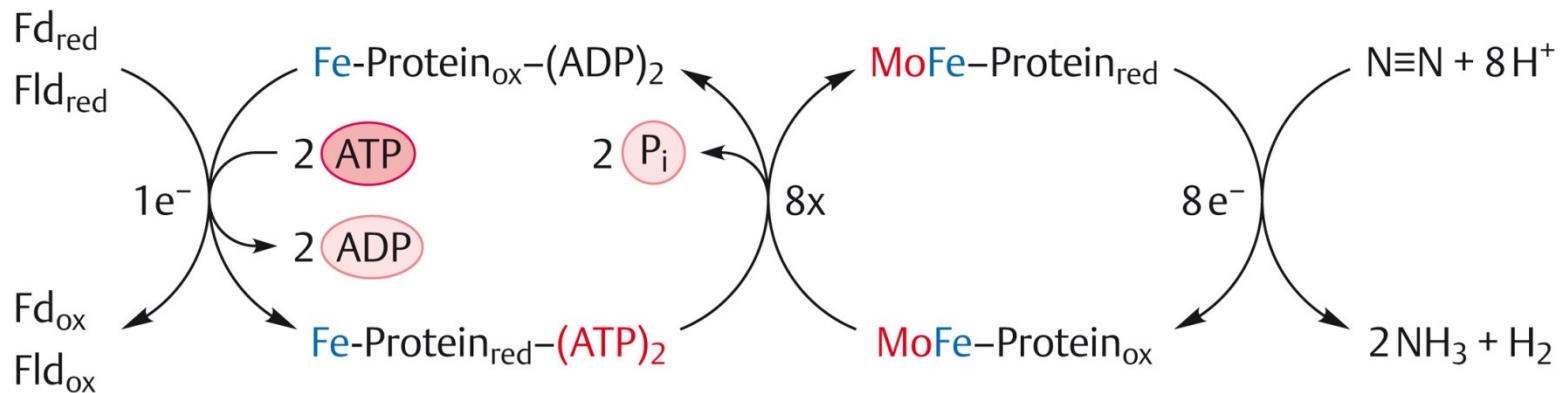
Molybdenum Nitrogenase



<http://www.chem.cmu.edu/groups/achim/research/magneto.html>



Nahezu alle Gene für die **Nitrogenase** liegen bei *K. pneumoniae* in einem Operon
nif und **fix** Gene sind verantwortlich für die Ausbildung der **Nitrogenase**



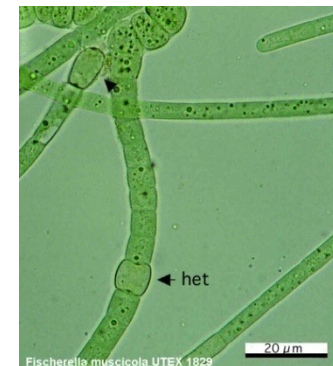
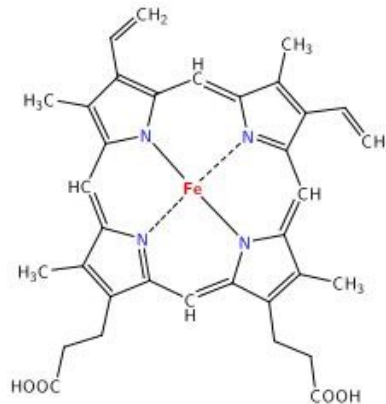
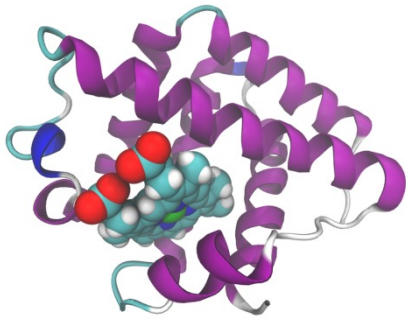
 Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

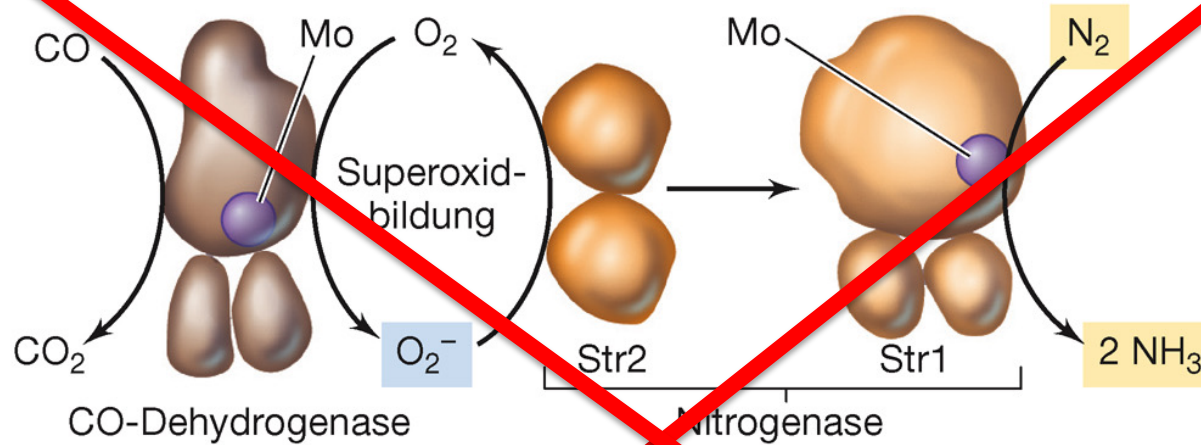
Komponente I (Nitrogenase Reduktase) nimmt e^- von Fd oder Fld auf und reduziert so Komponente II, die eigentliche Nitrogenase
dort werden die e^- gesammelt und auf N_2 übertragen
Für die Übertragung ist ATP notwendig
Es werden $8 e^-$ pro Mol N_2 benötigt

Die Nitrogenase ist in hohem Masse O_2 -sensibel bzw. wird durch O_2 inaktiviert

Schutz der Nitrogenase vor Sauerstoff durch:

- Bildung von Heterocysten in Cyanobakterien
- Schleimbildung in *Azotobacter vinelandii*
- Leghämoglobin in Leguminosenknöllchen
- Regulation auf Ebene der Translation und Transkription



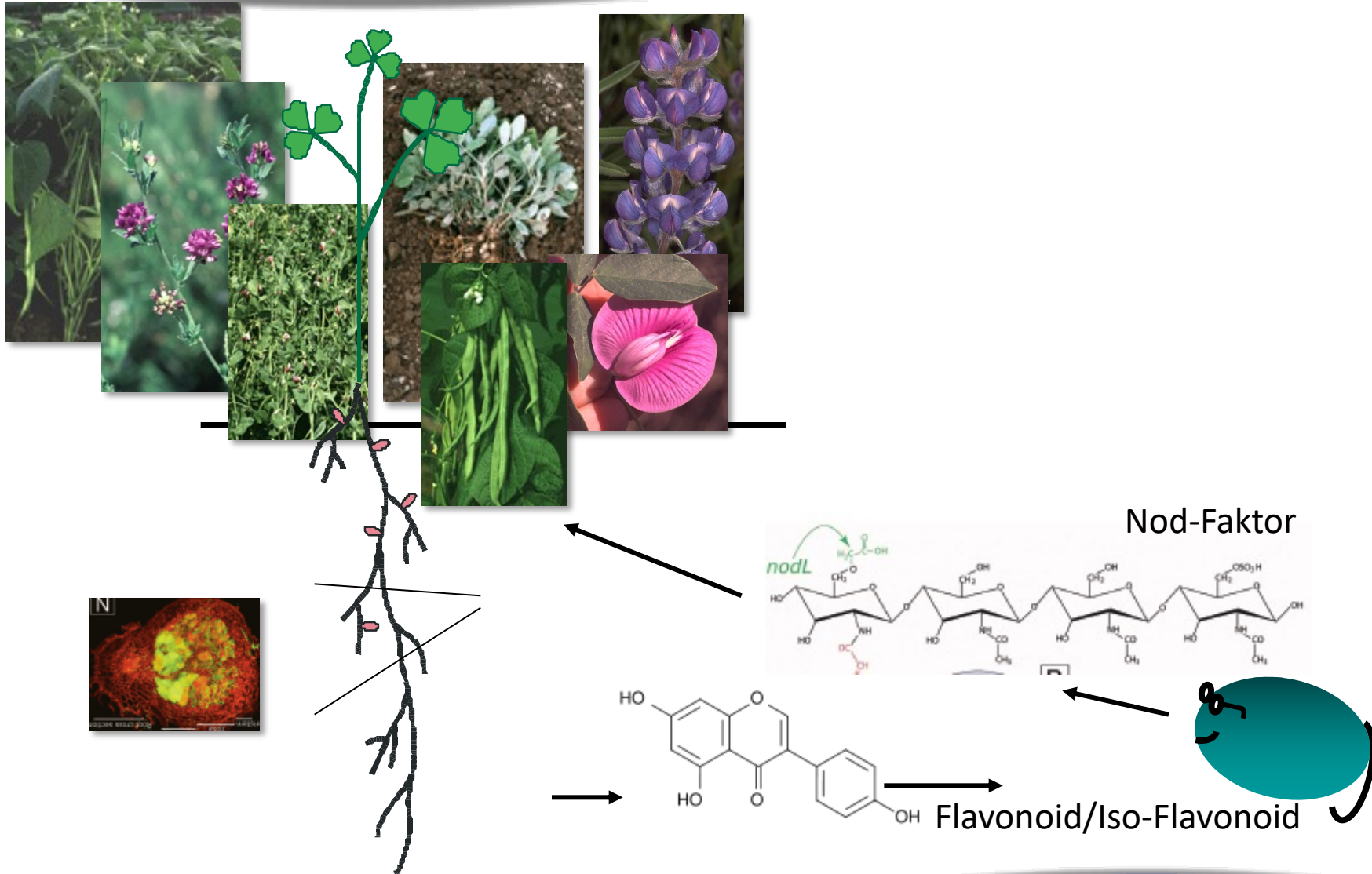


Reaktionen der Stickstofffixierung bei *Streptomyces thermoautotrophicus*

Das Enzym besteht aus drei Komplexen:

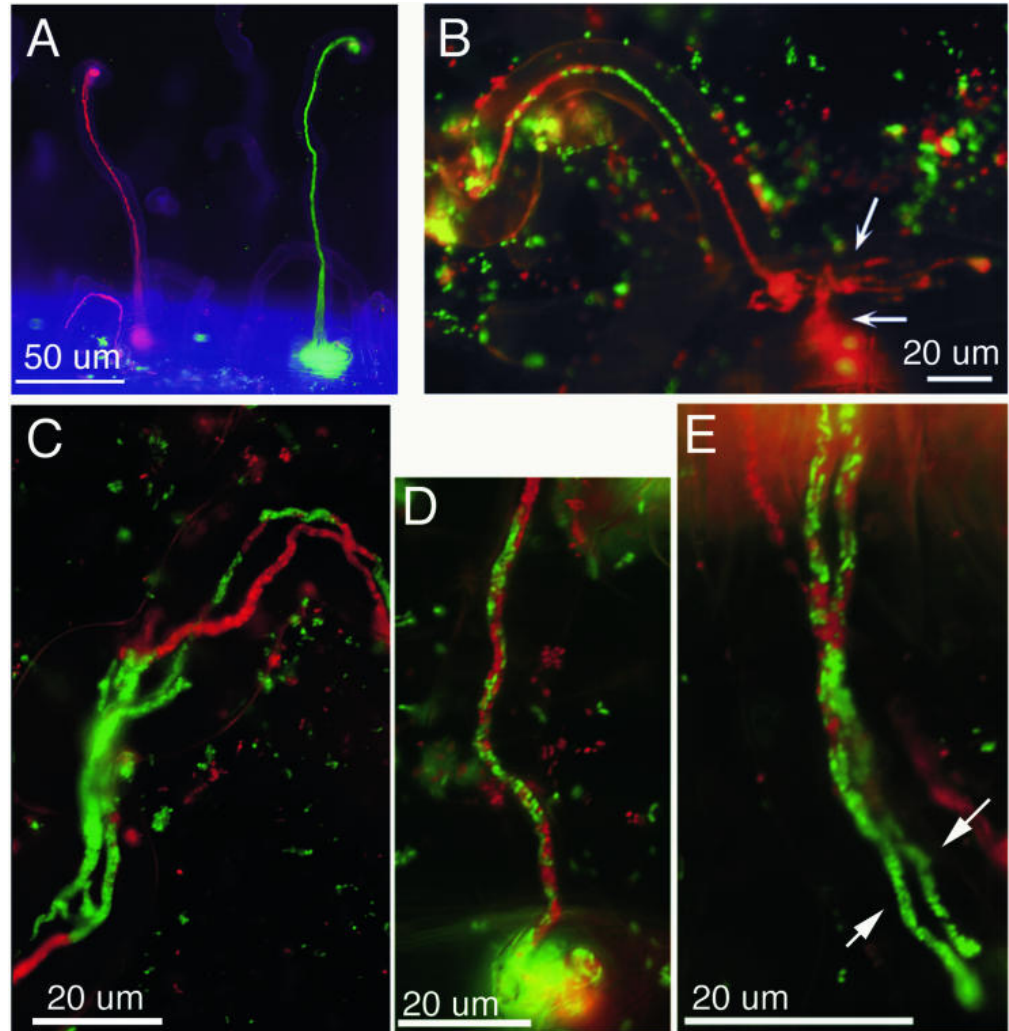
CO-DH, Str1 und Str2

- Str1 nur geringe Ähnlichkeit zur eigentlichen Nitrogenase
- Str2 ähnelt Superoxiddismutasen
- Elektronen für N_2 -Reduktion stammen aus O_2^- , die via CO-DH generiert werden



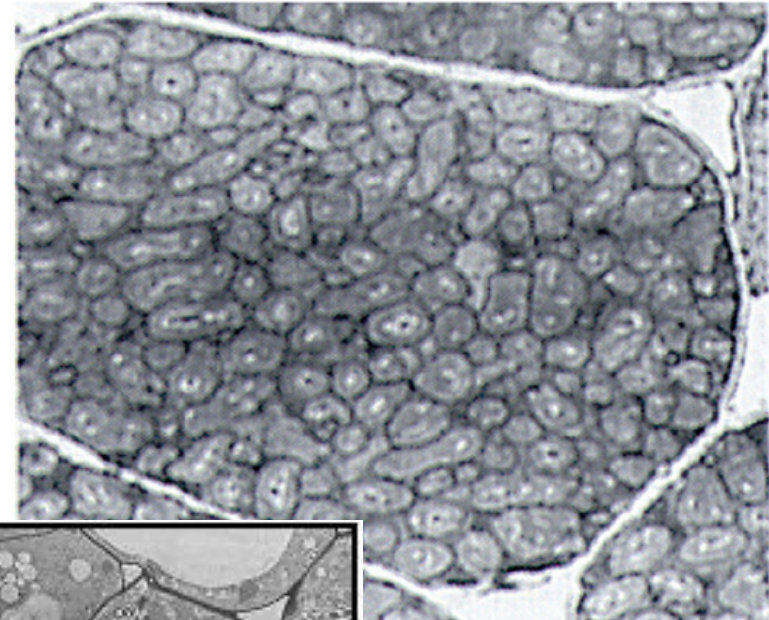
Bakterien bilden echte Infektionsschläuche

Gage, Microbiol Mol Biol Rev. 2004 68: 280–300.

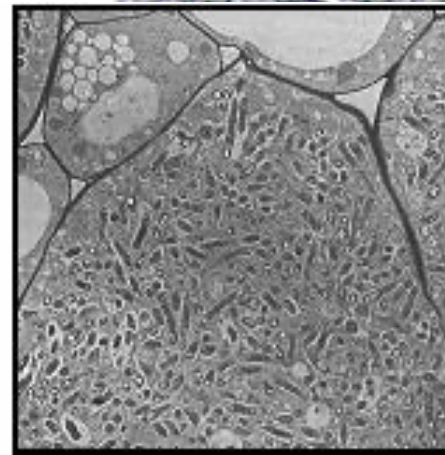
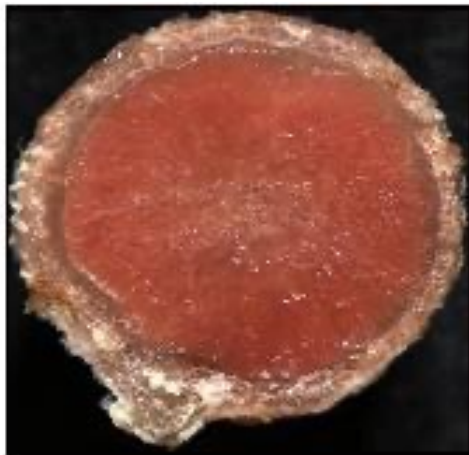


Wurzelknöllchen

- 2 Typen:
 - determiniert
 - nicht determiniert
- Bakterien von einer Peribacteroidmembran umgeben: Bakterien werden als Bacterioide bezeichnet, O_2 -Partialdruck sehr niedrig



P. J. Dart und F. V. Mercer



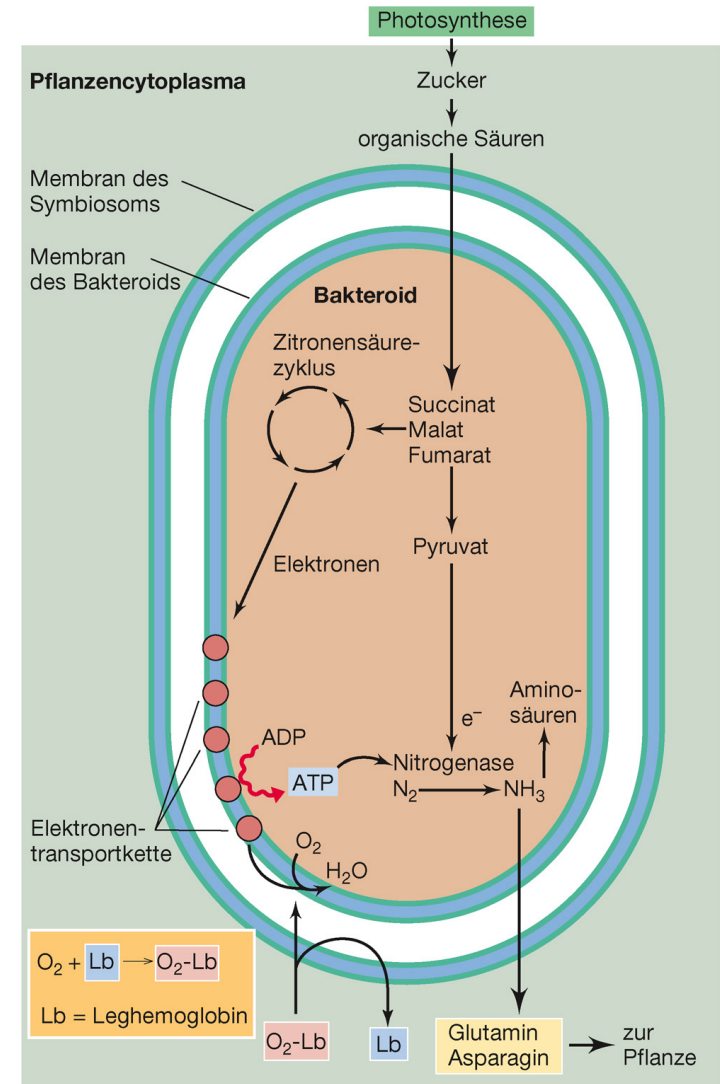
<http://www.micro.biol.ethz.ch/research/hennecke>

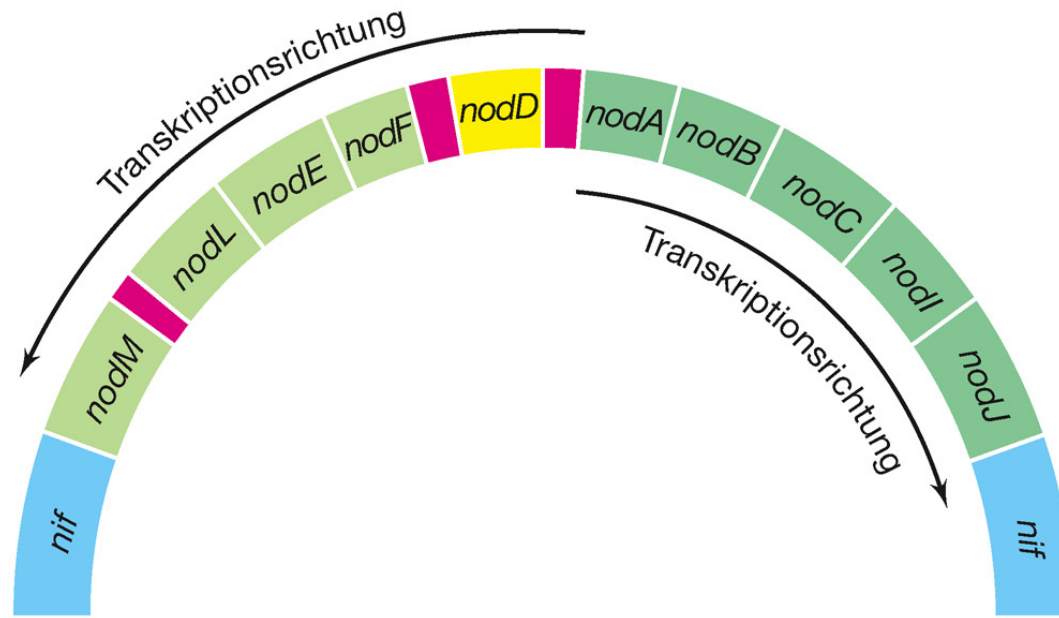
Stoffwechsel vollkommen anders
als im freilebenden Zustand

Leghämoglobin schützt vor O_2

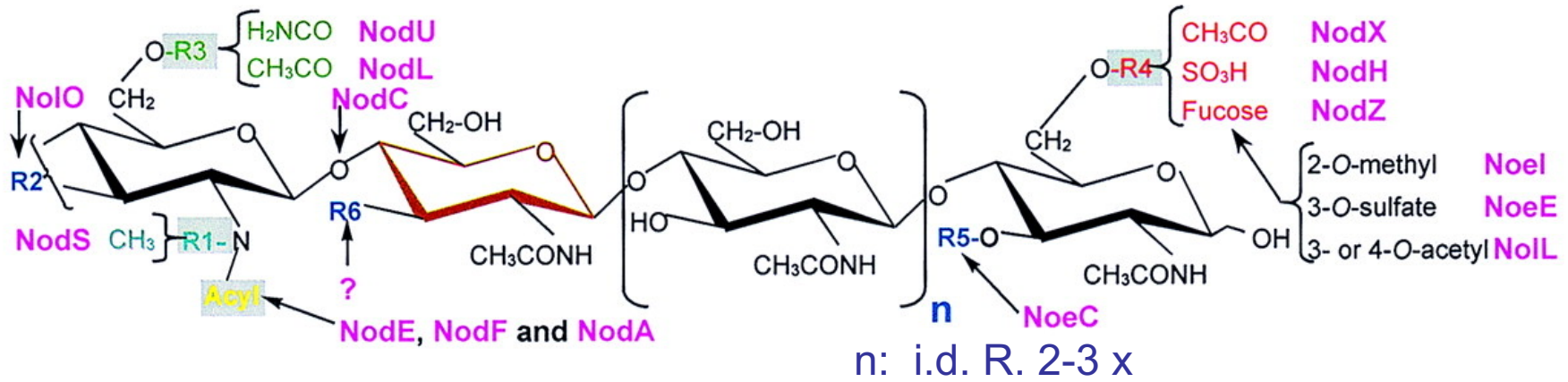
C-Quelle vermutlich Succinat

N_2 -Fixierung über GS Gogat



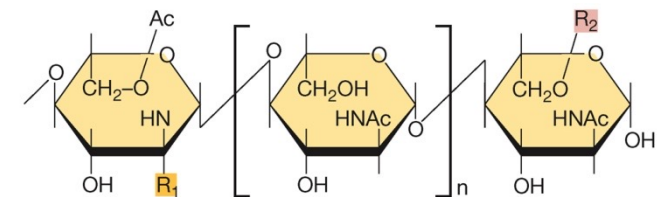


Idealerweise werden die NOd-Gene zusammen abgelesen.
NodD ist einer der Hauptaktivatoren.
Daneben gibt es noch übergeordnete Regulatoren.



Strains	Acyl	R1	R2	R3	R4	R5	R6	n	Ref.
---------	------	----	----	----	----	----	----	---	------

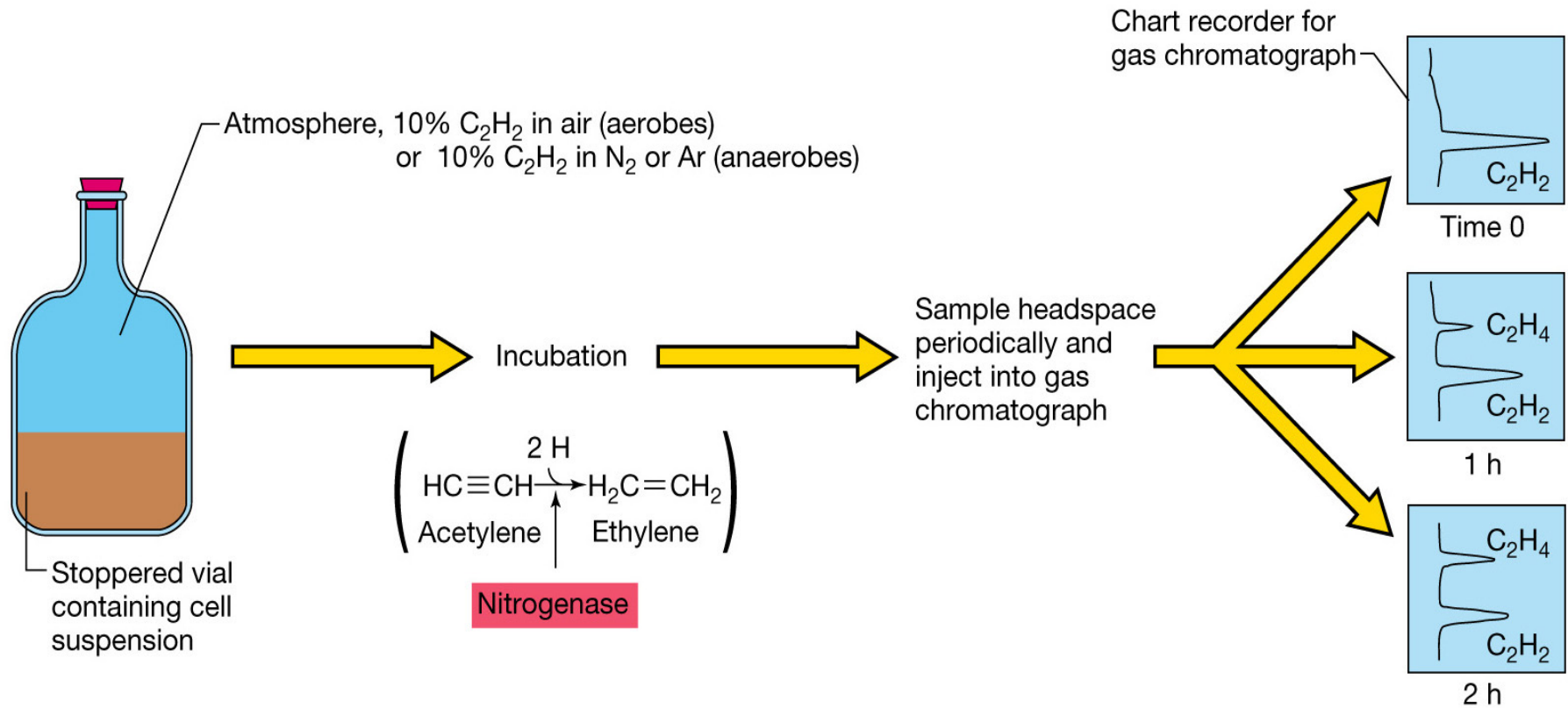
Nod-Faktoren sind Stammspezifisch modifiziert (dekoriert) und bestimmen so zumindest teilweise die Wirtsspezifität:

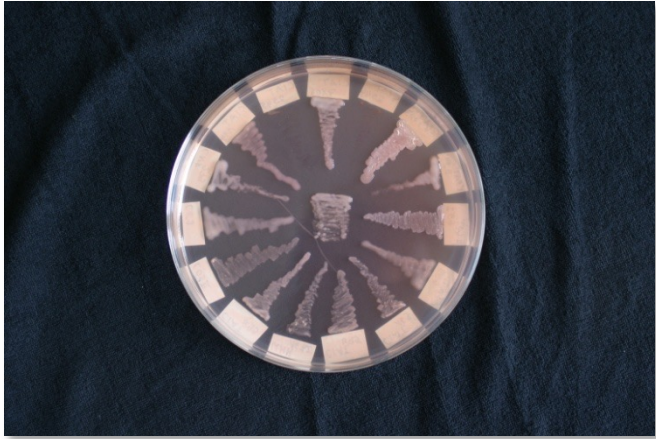


(a)

Art	R ₁	R ₂
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	C16 : 2 oder C16 : 3	SO ₄ ²⁻
<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar <i>viciae</i>	C18 : 1 oder C18 : 4	H oder Ac

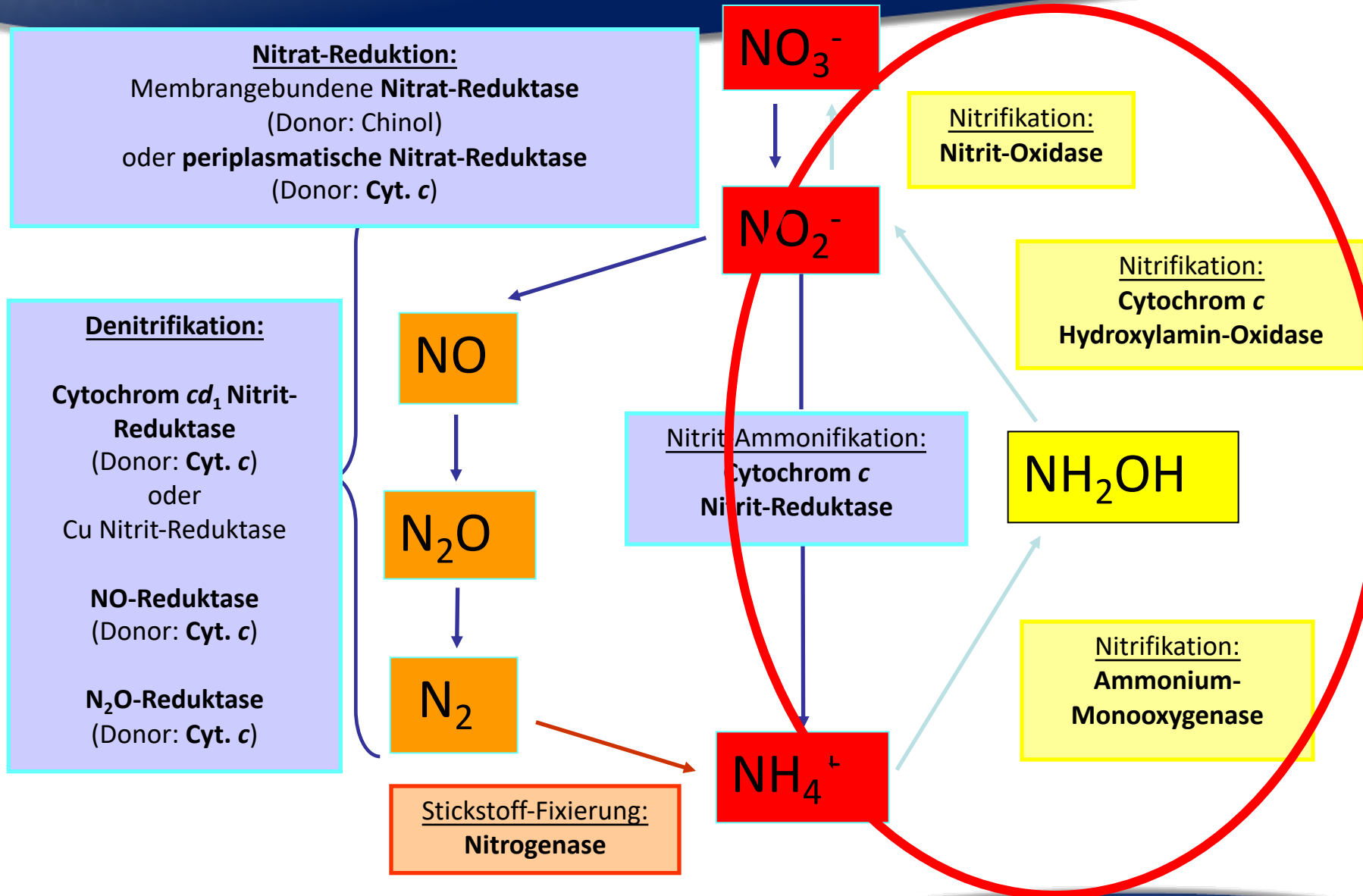
(b)





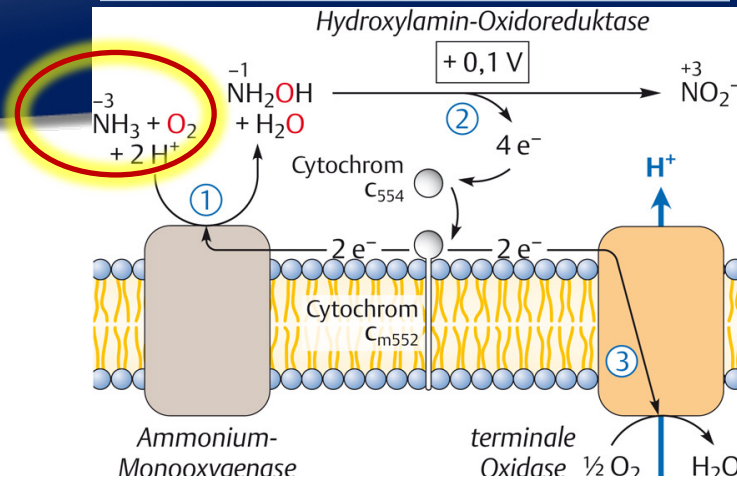
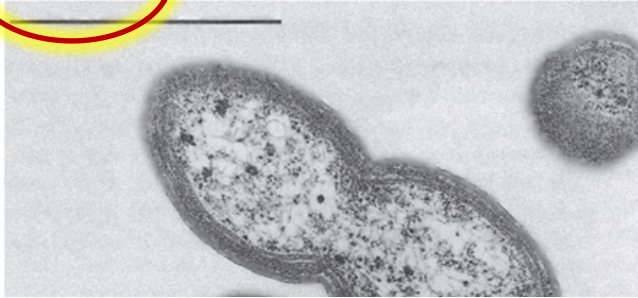
Rhizobien (Sinorhizobien etc.)

- gram-negative alpha-Proteobakterien
- kleine Stäbchen, auf Platte cremefarben wachsend, nicht pathogen
- nächste Verwandte: **Brucella** und **Agrobacterium**
- Genom relativ groß, bestehend aus einem Chromsom und 2-7 Megaplasmiden
- 1 Replikon ist symbiontisches Replikon
- Bradyrhizobium (langsam-wachsend), nur ein großes Chromosom (mind. 1 Woche bis zur Kolonie)
- alle anderen Rhizobien mehr oder weniger schnell-wachsend (2-3 Tage bis zur Kolonie)



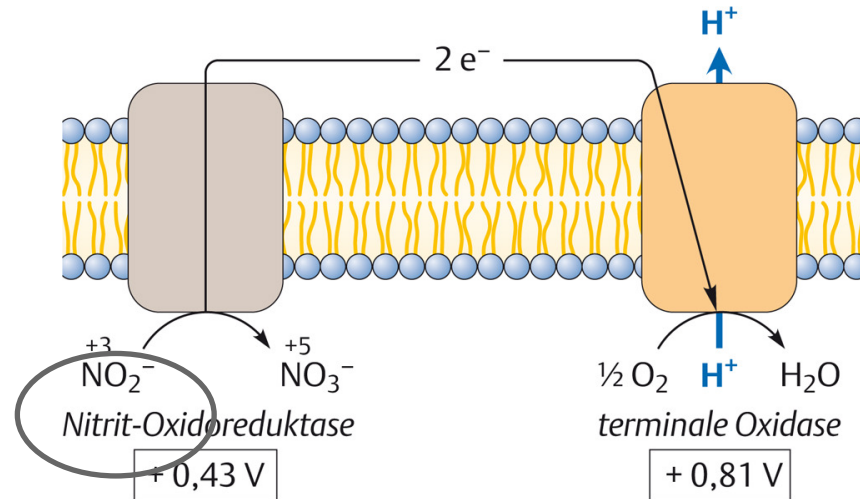
Einführung in die Mikrobiologie

Nitrosomonas europaeus



Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Nitrobacter vulgaris



Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Nitrosomonas europaeus



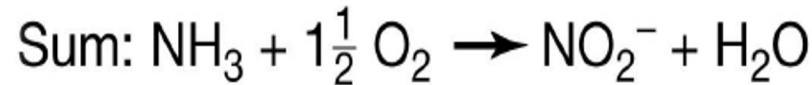
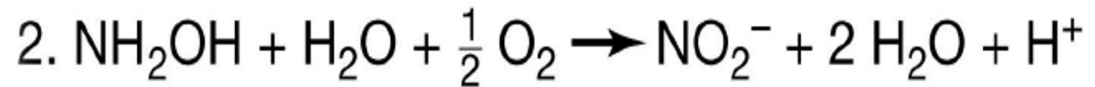
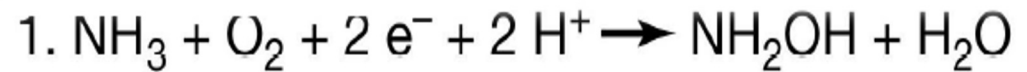
Nitrobacter vulgaris

Nitrobacter vulgaris



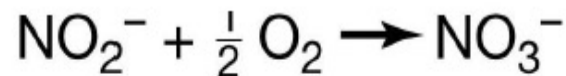
Nitrifikation

„Nitroso“-Bakterien

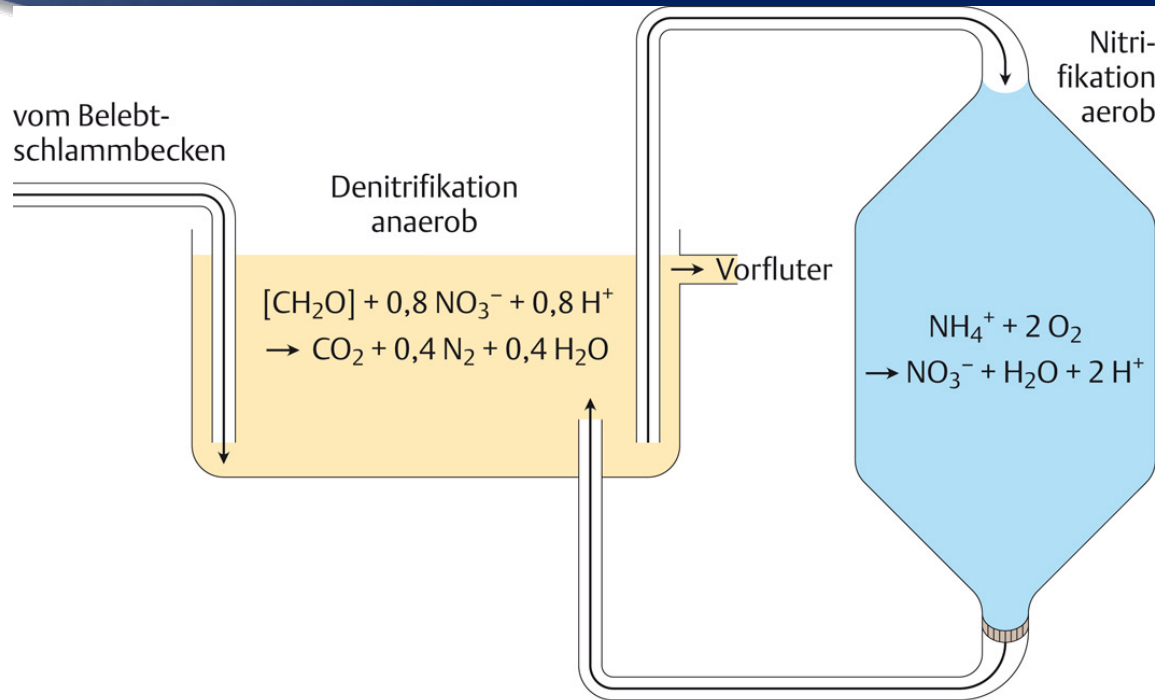


$$\Delta G^{0'} = -275 \text{ kJ/reaction}$$

„Nitro“-Bakterien



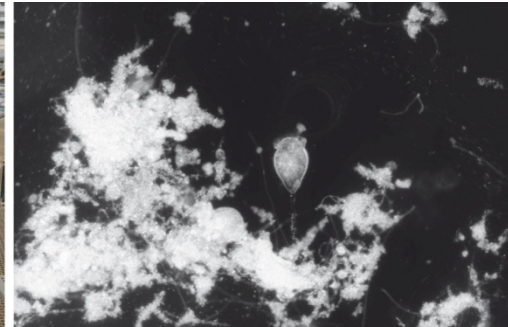
$$\Delta G^{0'} = -74.1 \text{ kJ/reaction}$$



Entfernung des Stickstoffes aus Kläranlagen-Abwässern mittels

1. Denitrifikation (aerob)
2. Nitrifikation (aerob)
3. Anammox (anaerob)

Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allg



Kläranlage Gö. mit
Belebtsbecken vorne
und Faulturm im
Hintergrund

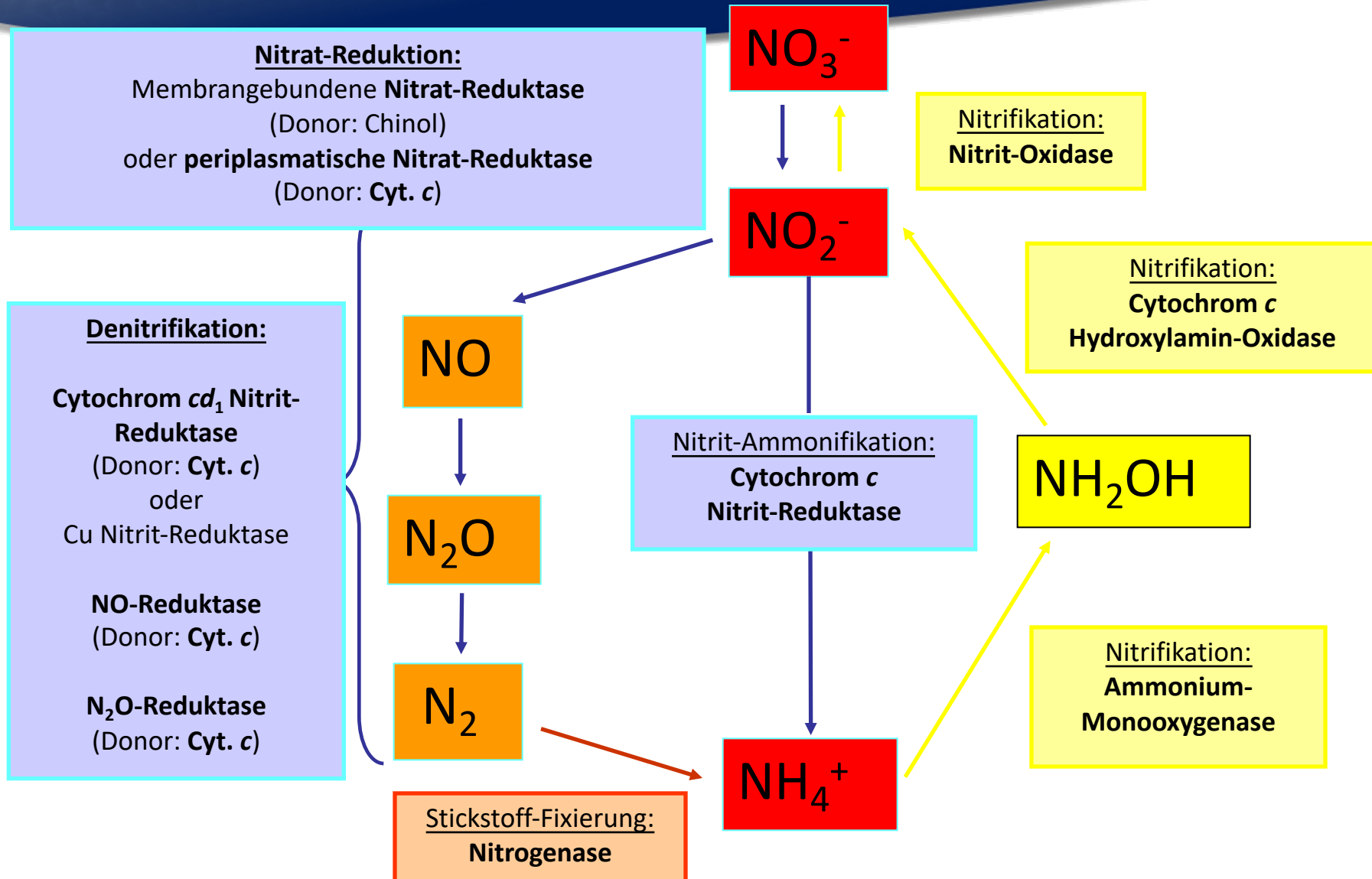


Bedeutung der **Nitrifikation**

- Entfernung von Ammonium bei der Abwasserbehandlung
- Verwitterung poröser Gesteine
- Abwasserbehandlung in einer typischen Kläranlage:
- Ausblühungen von Salpeter
- Rolle im N-Kreislauf

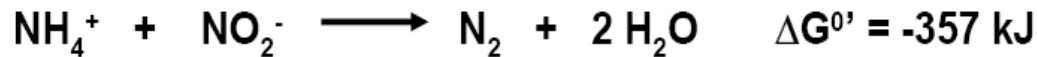


Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

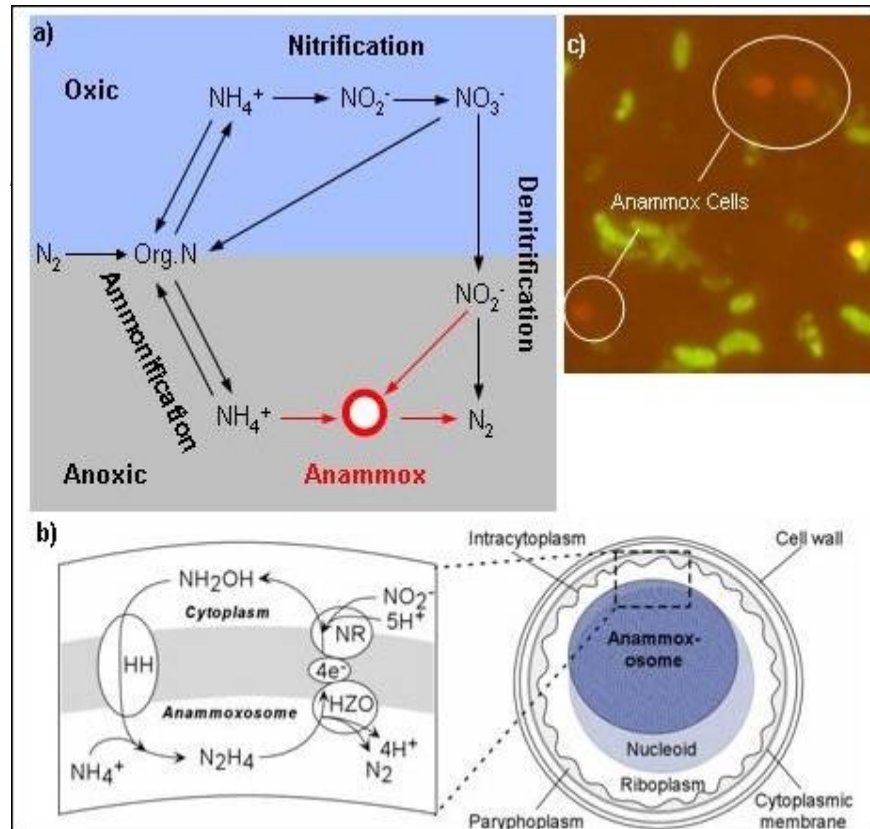
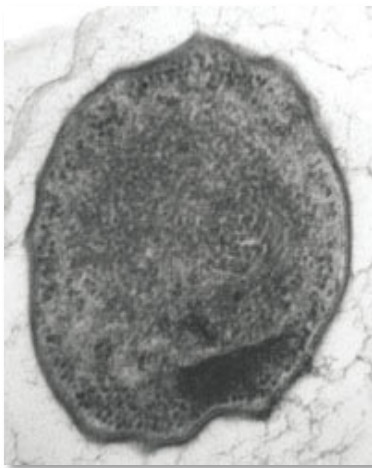


Anaerobe Ammoniumoxidation

Anammox-Prozess:



Brocadia anammoxidans
Kuenenia stuttgartiensis
(Planctomyceten)



Nitrat (NO_3^-)

Nitratreduktase

Nitrit (NO_2^-)

Nitritreduktase

Stickstoffmonoxid (NO)

Stickstoffmonoxid-
reduktase

Distickstoffmonoxid (N_2O)

Distickstoffmonoxid-
reduktase

elementarer
Stickstoff (N_2)

Schritte der dissimilativen Reduktion von Nitrat

Einige Mikroorganismen - z. B. *Escherichia coli* - vollziehen nur den ersten Schritt bis zum NO_2^- .

Denitrifizierung
(anaerob, microaerob)

Gase, die in die
Atmosphäre
entlassen werden
(Denitrifizierung)

Denitrifizierung / Nitrat-Atmung in vielen Mikroorganismen

Pseudomonas denitrificans

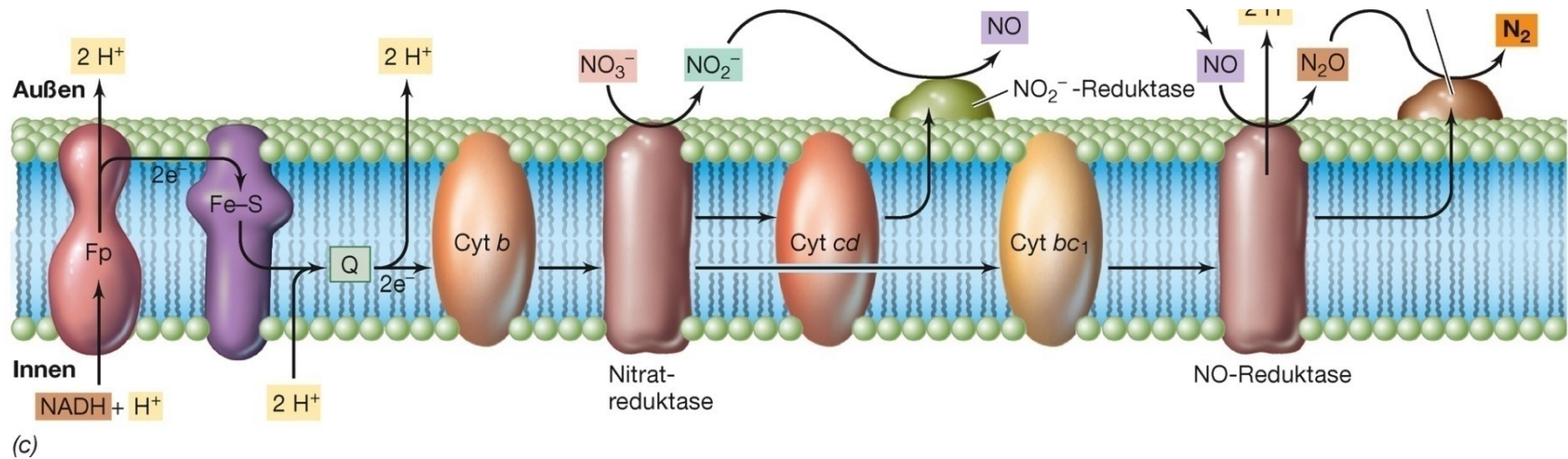
Pseudomonas stutzeri

Paracoccus denitrificans

Thiobacillus denitrificans

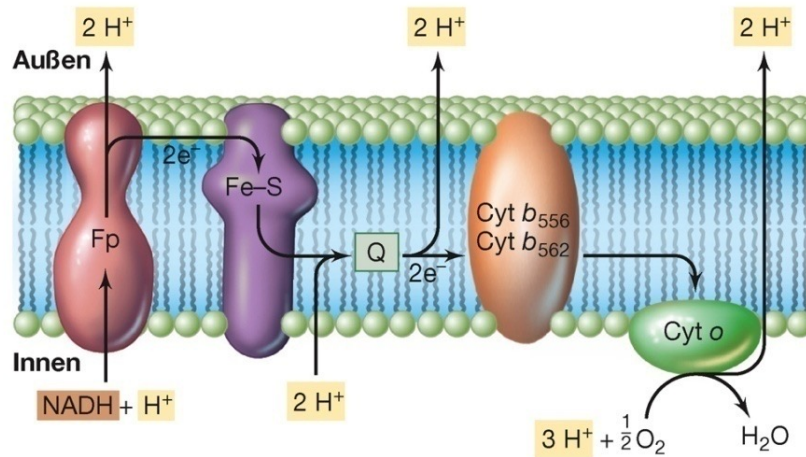
Bacillus licheniformis

Pseudomonas aeruginosa

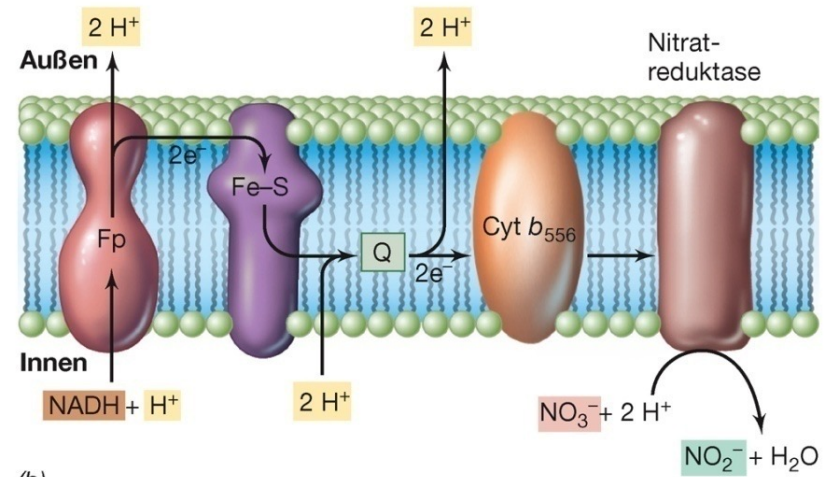


Schema für den Elektronentransport in Membranen von *Pseudomonas stutzeri* während der Denitrifikation

Nitrat- und Stickstoffmonoxidreduktase sind in der Cytoplasmamembran angeordnet, während die Nitritreduktase und die Distickstoffmonoxidreduktase im Periplasma beheimatet sind.



(a)



(b)

Atmung (Respiration)

Elektronentransportvorgänge in der Membran von *Escherichia coli* mit
(a) Sauerstoff oder (b) Nitrat (als Elektronenakzeptoren)

Fp: Flavoprotein; Q: Ubichinon

Bei hoher Sauerstoffkonzentration ist die Reihenfolge der Elektronenüberträger
 $b_{562} \rightarrow \text{cyt } o \rightarrow O_2$.